刘氏蝎蛉的精子发生和精子超微结构

张贝贝[1,2], 谢　莎[1], 花保祯[1,*]

(1. 西北农林科技大学植物保护学院, 植保资源与病虫害治理教育部重点实验室, 陕西杨凌 712100;
2. 海南大学热带农林学院, 海南儋州 571737)

摘要:【目的】精子超微结构在不同昆虫类群中变异较大,在昆虫种类鉴别和系统发育分析中具有重要意义。但截止目前,长翅目(Mecoptera)昆虫的精子发生和精子超微结构研究还很不充分。【方法】采用光学显微镜和透射电子显微镜技术,观察了刘氏蝎蛉 *Panorpa liui* Hua 的精子发生和精子超微结构。【结果】刘氏蝎蛉精原细胞在精囊内共分裂 7 次,产生 128 个精子细胞。这些精子细胞同步发育,成熟后结合形成数目略低于 128 的精子束。精子形成期,精子细胞内高尔基复合体产生的原顶体颗粒物质形成精子顶体;球状细胞核伸长、核内染色质凝集,形成致密的线形细胞核;分散的线粒体聚集、融合产生的副核转化形成 2 条线粒体衍生物。成熟精子由头部、颈区和长鞭毛组成。精子头部包括双层顶体和具有 2 条侧沟的细胞核两部分;颈区主要由中心粒和致密的鞘状中心粒侧体组成。鞭毛螺旋状,主要由 1 条 9+2 型轴丝、2 条大小不等的线粒体衍生物和 2 条副体组成。【结论】刘氏蝎蛉精子束内精子数目略低于 128,可能与精子复杂的形成过程及细胞的吞噬作用有关。线粒体衍生物在不同类群间差异显著,可为长翅目系统发育分析提供有用的特征。

关键词: 长翅目; 蝎蛉科; 精子形成; 线粒体衍生物; 中心粒侧体; 副体

中图分类号: Q964　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 0454-6296(2017)04-0389-12

Spermatogenesis and sperm ultrastructure of *Panorpa liui* Hua (Mecoptera: Panorpidae)

ZHANG Bei-Bei[1,2], XIE Sha[1], HUA Bao-Zhen[1,*] (1. Key Laboratory of Plant Protection Resources and Pest Management, Ministry of Education, College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Danzhou, Hainan 571737, China)

Abstract:【Aim】Sperm ultrastructure exhibits great variations among insect groups and has important value for species recognition and phylogenetic analysis of insects. However, spermatogenesis and sperm ultrastructure in Mecoptera have not been sufficiently studied.【Methods】The spermatogenesis and sperm ultrastructure of the scorpionfly *Panorpa liui* Hua were investigated by light and transmission electron microscopy.【Results】Each spermatogonium undergoes seven successive divisions in a cyst of *P. liui*, resulting in 128 spermatids that synchronously transform later into spermatozoa. These mature spermatozoa form a sperm bundle, but the number of spermatozoa is normally less than 128 in a bundle. During spermiogenesis, the sperm acrosome is generated by the pro-acrosomal granule material, which originates from Golgi apparatus in the cytoplasm of spermatids. The elongated nucleus is transformed through nucleus elongation and streamlining with a simultaneous condensation of chromatin. The mitochondrial derivatives are transformed from the conspicuous nebenkern, which is formed from mitochondrial aggregation and fusion in the cytoplasm of spermatids. The mature spermatozoon consists of a short head, a neck region, and a long flagellum. The head is composed of the apical bilayered acrosome and the elongated nucleus with two lateral grooves. The neck region mainly consists of the centriole and the

基金项目: 国家自然科学基金项目(31672341)

作者简介: 张贝贝, 女, 1987 年 10 月生, 河南开封人, 博士, 讲师, 研究方向为昆虫系统学与生物多样性, E-mail: zhangbeibei052@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: huabzh@nwafu.edu.cn

收稿日期 Received: 2016-12-19; 接受日期 Accepted: 2017-03-10

electron-dense, sheath-shaped centriolar adjunct. The flagellum is helical and mainly comprises a 9 + 2 axoneme, two mitochondrial derivatives of different sizes, and two accessory bodies. 【Conclusion】The phenomenon that the number of sperm in a sperm bundle of *P. liui* is usually slightly less than 128 is likely associated with the complex process of spermiogenesis and phagocytosis of cells. The mitochondrial derivatives differ distinctly among different groups and likely provide valuable characters for phylogenetic analysis of Mecoptera.

Key words: Mecoptera; Panorpidae; spermiogenesis; mitochondrial derivative; centriolar adjunct; accessory body

长翅目(Mecoptera)是全变态类昆虫中较古老的一个小类群,是唯一在幼虫期具有复眼的类群,在全变态类昆虫系统发育研究中占据着独特的地位。然而,长翅目的系统发育地位却一直存在有争议(Hennig, 1969; Whiting, 2002; Wiegmann *et al*., 2009; Beutel *et al*., 2011; Friedrich *et al*., 2013; Misof *et al*., 2014),亟需寻找更多的证据。

精子(spermatozoa)是有性生殖动物高度特化的雄配子,在激活卵细胞、传递遗传物质等方面起着重要作用(Birkhead *et al*., 2009)。昆虫的精子具有快速和趋异进化的特性,其形态结构复杂多样,尤其是精子的超微结构,在不同类群间表现出显著差异。精子形态的变化可为昆虫分类及其系统发育分析或各类群系统发育的重建提供有价值的、可靠的特征(Baccetti, 1972; Jamieson, 1987; Jamieson *et al*., 1999; Dallai, 2009, 2014; Dallai *et al*., 2016a; Gottardo *et al*., 2016)。

但关于长翅目精子结构的研究迄今仍很少,仅涉及蝎蛉科(Panorpidae)、蚊蝎蛉科(Bittacidae)、拟蝎蛉科(Panorpodidae)和雪蝎蛉科(Boreidae)等4科9种(Baccetti *et al*., 1969; Baccetti, 1972; Gassner *et al*., 1972; Dallai *et al*., 2003; Russell *et al*., 2013; Shepardson *et al*., 2014; Zhang and Hua, 2014; Zhang *et al*., 2016)。蝎蛉科是长翅目最大的科,已知有7属400多种(Gao *et al*., 2016)。蝎蛉属 *Panorpa* 作为蝎蛉科种类最多的属,其精子结构研究仅涉及德国蝎蛉 *Panorpa germanica* Linnaeus, 附蝎蛉 *P. annexa* MacLachlan 和献礼蝎蛉 *P. nuptialis* Gerstaecker 3种,精子发生过程和精子结构变异等许多问题尚未弄清,亟需开展研究。

刘氏蝎蛉 *Panorpa liui* Hua, 1997 广泛分布于中国东北部平原和低海拔(50 ~ 1 100 m)山区,与大部分偏好高海拔山区栖息的蝎蛉种类有显著不同。刘氏蝎蛉一年发生2代,幼虫蠋式,具3对胸足和8对腹足(Jiang and Hua, 2013)。成虫交配时,雄虫因其极不发达的唾液腺在求偶时向雌虫提供猎物(而非唾液球)作为礼物,吸引雌虫取食后,用其第3、4腹节上的背中突夹持雌虫一侧前、后翅的前缘,并用其强壮的生殖铗夹住雌虫腹部末端,将其外生殖器与雌虫的外生殖器嵌合完成交配(Ma and Hua, 2011; Ma *et al*., 2011)。关于刘氏蝎蛉的卵巢结构、卵子发生以及精子泵已有研究报道,而其精子发生及精子结构尚未涉及(侯小燕和花保祯, 2007; Ma and Hua, 2009; 马娜和花保祯, 2010; Shen and Hua, 2013)。本研究运用光学显微镜和电子显微镜技术,研究了刘氏蝎蛉的精子发生及精子超微结构,旨在阐明蝎蛉科昆虫的精子发生过程,为探讨长翅目系统发育关系提供特征依据。

1 材料与方法

1.1 标本采集与饲养

刘氏蝎蛉 *P. liui* 成虫2013年8月以网捕法采集于辽宁省沈阳市沈阳农业大学植物园(41°50′N, 123°35′E)。采集的雌、雄成虫在18 ~ 24℃、RH 70% ~85%条件下成对饲养于装有湿土的透明塑料杯中,用死亡的黄粉虫 *Tenebrio molitor* Linnaeus 幼虫作为食料。雌虫交配后产卵。幼虫从卵中孵化后进行人工饲养,一部分饲养至4龄幼虫、化蛹备用,一部分继续饲养至成虫(羽化1周时间内的雄性个体及临近交配期的雄性个体)。

1.2 透射电子显微镜样品制备与观察

用乙醚将活体雄性成虫和4龄幼虫个体麻醉,在低温环境中将其及雄蛹置于0.1 mol/L 磷酸缓冲液(PBS, pH 7.2)中,在 Motic SMZ-168 体视显微镜下快速解剖,取出精巢小管和附睾。将精巢小管和附睾剪切成体积约0.5 ~ 1.0 mm^3 的样块,迅速投入预先盛有添加3%蔗糖溶液的2%多聚甲醛和2.5%戊二醛混合固定液中,4℃下固定12 h。

固定后的样品用磷酸缓冲液漂洗6次,在1%

锇酸中 4℃下后固定 1.5 h。磷酸缓冲液漂洗，以梯度乙醇溶液（30%，50%，75%，80%，90% 和 100%）和纯丙酮进行脱水。样品依次经过不同浓度的丙酮-Epon 812 树脂混合物（分别为 3∶1，1∶1 和 1∶3，v/v）与纯 Epon 812 渗透后包埋。将包埋后的样品放入烘箱中 30℃下聚合 24 h，60℃下聚合 48 h。

聚合好的胶粒定位后，用 Leica EM UC7 型超薄切片机进行超薄切片（切片厚度约 70 nm），经 2%醋酸双氧铀和 4%柠檬酸铅双重染色（时间分别为 8 和 10 min）后，在 JEOL JEM-1230 型透射电子显微镜 80 kV 下观察并拍照。

1.3　组织学观察

将聚合后的样品胶粒进行修整，用玻璃刀切成厚度约 1 μm 的半薄切片，置于预先滴有蒸馏水的洁净载玻片水滴上。切片烤干后，用 0.5% 甲苯胺蓝染色，蒸馏水冲洗、烤干，最后在连接有 Nikon DS-Ril 成像系统的 Nikon Eclipse 80i 型光学显微镜下观察并拍照。

1.4　精子细胞核形态观察

用乙醚将活体雄性成虫和 4 龄幼虫个体麻醉后，将其及雄蛹置于盛有磷酸缓冲液的凹面皿中。体式显微镜下迅速解剖精巢，去膜后分离出单独的精巢小管放置于滴有蒸馏水的洁净载玻片上。对精巢小管进行破壁，剖出精囊，并对精子细胞核进行吉姆萨（Giemsa）及 4，6-二脒基-2-苯基吲哚（DAPI）染色（时间分别为 10 和 5 min）。蒸馏水冲洗干净后，在显微镜下观察、照相。

2　结果

2.1　刘氏蝎蛉精子发生

刘氏蝎蛉精子发生在精巢小管中以精囊为单位进行（图 1：A）。精巢小管自顶端至基部具有不同的分区，依次为生殖生长区、转化区和精子成熟区（图 1：A），在每个分区内都含有数量较多的精囊（图 1：B，C）。精原细胞在精囊内共经过 7 次分裂，最终产生 128 个精子细胞（图 1：C）。精子细胞再经过形态转化形成精子。一个精囊内的精子在成熟后进一步结合，成为一条精子束。同一精囊内的生殖细胞都处于同一状态（图 1：D），表明一个精囊内的所有细胞，其分裂和发育都是同步进行的。

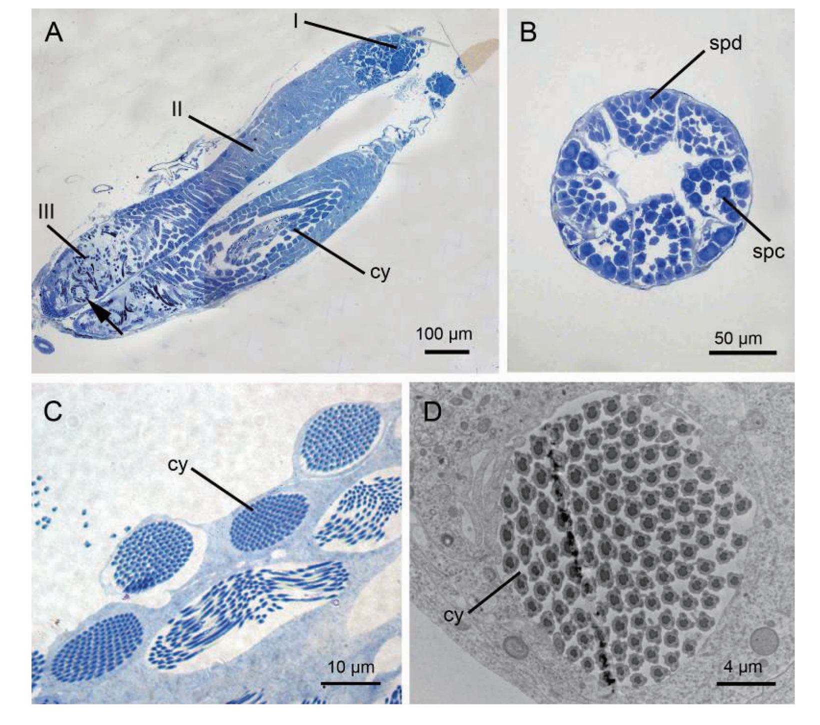


图 1　刘氏蝎蛉精巢小管和精囊

Fig. 1　Testicular follicles and cysts of *Panorpa liui*

A：早期成虫的精巢小管纵切，示不同分区，箭头示弹簧状精子束 Longitudinal section of testicular follicles of early adult showing different regions, arrow pointing to a coiled sperm bundle；B：精巢小管顶端横切 Cross-section of the apical testicular follicle；C：精巢小管中的精囊 Cysts in the testicular follicle；D：精囊横切超微图，示精子细胞头部区域 Cross-section of a cyst, showing the head part of spermatids. Ⅰ：生长区 Growth zone；Ⅱ：转化区 Transformation zone；Ⅲ：精子成熟区 Sperm maturation zone；cy：精囊 Cyst；spc：精母细胞 Spermatocyte；spd：精子细胞 Spermatid.

精子发生初期,每个精原细胞会形成一个独立的精囊。精囊内的精原细胞经过 5 次分裂,产生 32 个精母细胞。这些精母细胞随后又经历 2 次连续分裂,产生 128 个单倍体的精子细胞。精子发生早、中期,精巢小管顶端的生长区中具有大量处于精母细胞期和精子细胞期的精囊(图 1: B)。处于精母细胞期的精囊,最明显的特征是囊内的细胞体积较大,具有一个直径约为 13 μm 的细胞核(图 2: A)。透射电镜下,可观察到精母细胞核内的联会丝复合物(图 3: A, B),通过这些结构可明显将精母细胞与精子细胞区分开。此外,精母细胞细胞质内含有大量的线粒体(图 3: A),在细胞分裂过程中会逐渐聚集在细胞核或染色体周围(图 2: B; 图 3: C, D)。而处于精子细胞期的精囊内的细胞体积较小(图 2: C)。

在精子细胞转化形成精子的早期阶段,即精子形成早期,精子细胞具有一个染色质均匀分布、直径约为 6 μm 的细胞核和一个由线粒体融合形成的副核结构(图 2: D)。其中副核为一个直径约 7.8 μm 的球状结构,由细胞质内的线粒体聚集、融合成联锁状(图 4: A)。在细胞质中副核结构的周围存在大量的内质网结构(图 4: A)。此外,细胞质中还具有高尔基复合体及散乱的原顶体颗粒物质(图 4: B)。随着形成过程的推移,高尔基复合体向细胞核移动,原顶体颗粒物质也聚集、规则地位于高尔基复合体的凹面窝内,其中心位置还出现一个较小的囊泡结构(图 4: C)。而在细胞核的对面位置产生基体,并进而产生轴丝结构(图 4: D)。

随着精子形成过程的继续,精子细胞核由球状开始伸长(图 5: A, B),核内的染色质开始凝集。随着轴丝的出现,副核移动至基体附近的轴丝基部。

精子形成中期,原顶体颗粒物质连同高尔基复合体移动至细胞核的顶端,逐渐形成顶体囊结构;细胞核伸长为粗线形(图 5: C, D),染色质逐渐凝集;副核形成 2 条线粒体衍生物,位于轴丝两侧(图 6: A)。细胞核及线粒体衍生物外围具有一圈明显的

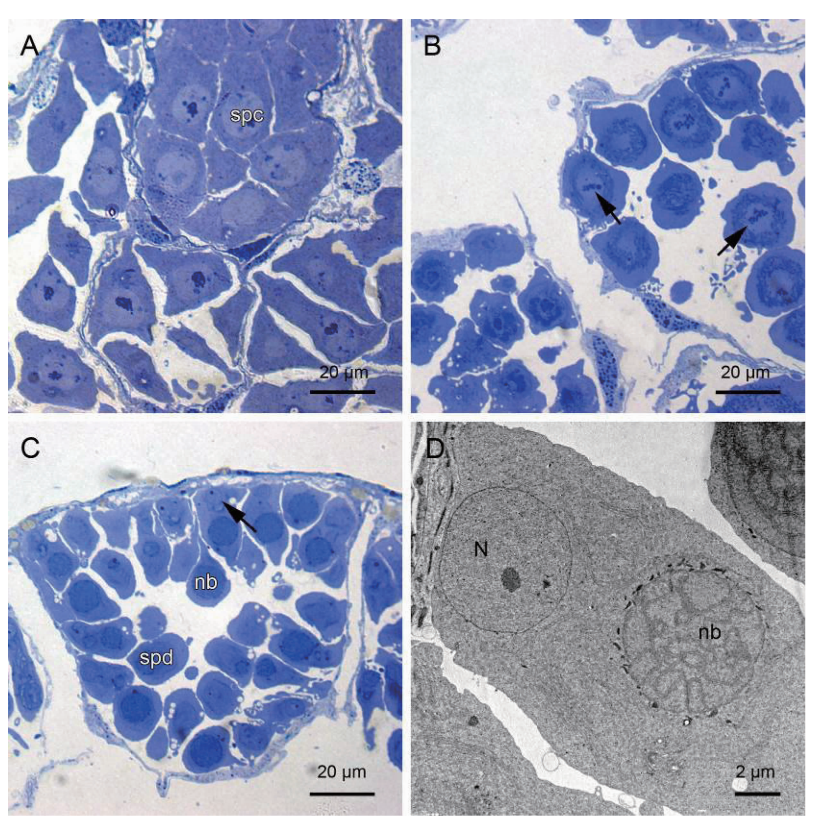


图 2 刘氏蝎蛉精母细胞和精子细胞

Fig. 2 Spermatocytes and spermatids of *Panorpa liui*

A: 精母细胞组织切片,示细胞核 Histological section of spermatocytes showing the nuclei; B: 分裂中的精母细胞,箭头示染色体 Spermatocytes under division, arrows pointing to chromosomes during division; C: 精子细胞组织切片,箭头示细胞核 Histological section of spermatids, arrow pointing to the small nucleus of the spermatid; D: 精子细胞超微结构,示细胞核和副核 Ultrastructure of a spermatid showing the nucleus and nebenkern. N: 细胞核 Nucleus; nb: 副核 Nebenkern; spc: 精母细胞 Spermatocyte; spd: 精子细胞 Spermatid.

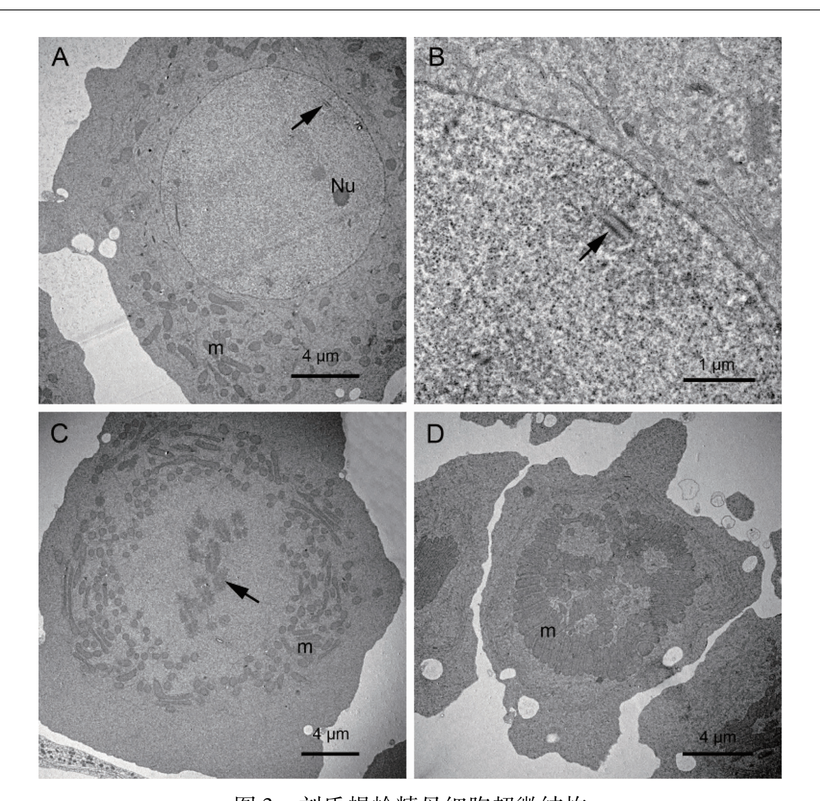


图 3　刘氏蝎蛉精母细胞超微结构

Fig. 3　Ultrastructure of spermatocytes of *Panorpa liui*

A：精母细胞，具细胞核和大量线粒体，箭头示联会丝复合物 A spermatocyte with a nucleus and numerous mitochondria, arrow pointing to the synaptonemal complex in the nucleus；B：联会丝复合物（箭头所示）放大 Magnification of the synaptonemal complex (indicated by the arrow)；C：分裂中的精母细胞，箭头示排列在赤道板上的染色体 A spermatocyte during division, arrow pointing to the compact chromosome arranged at the equatorial plate；D：精母细胞内的线粒体聚集 Mitochondria aggregated in the cytoplasm of spermatocytes. m：线粒体 Mitochondrion；Nu：核仁 Nucleolus.

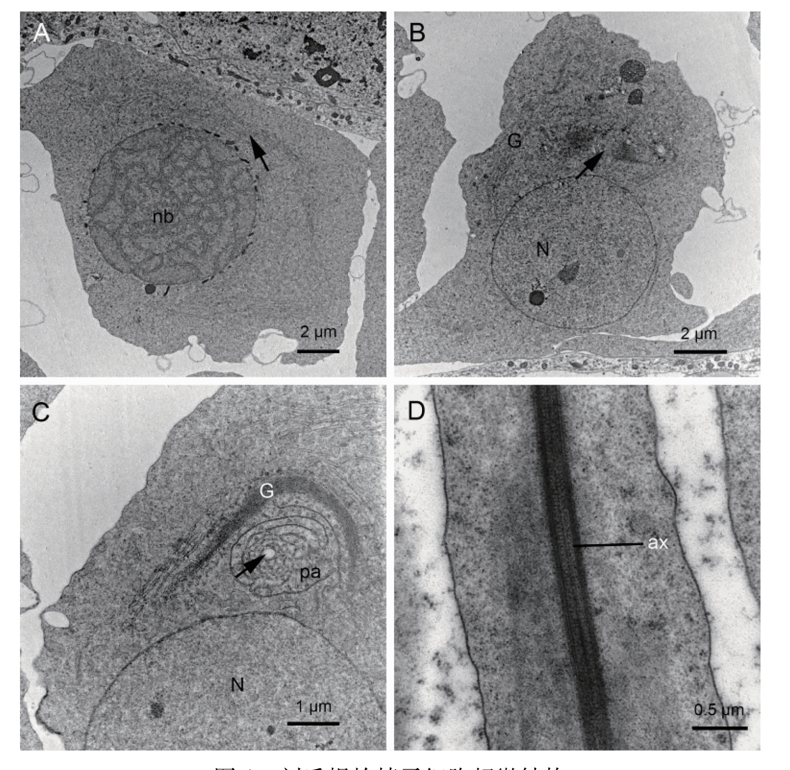


图 4　刘氏蝎蛉精子细胞超微结构

Fig. 4　Ultrastructure of spermatids of *Panorpa liui*

A：精子细胞的副核结构，箭头示内质网 Nebenkern in a spermatid, arrow pointing to the endoplasmic reticulum；B：精子细胞核及原顶体颗粒物质（箭头所示）A spermatid with the nucleus and pro-acrosomal granule material (indicated by the arrow)；C：高尔基复合体及带有囊泡结构（箭头所示）的原顶体颗粒物质 Pro-acrosomal granule material with a distinct vesicle (indicated by the arrow) along the concave side of Golgi apparatus；D：轴丝纵切 Longitudinal section of the axoneme of early spermatids. ax：轴丝 Axoneme；G：高尔基复合体 Golgi apparatus；N：细胞核 Nucleus；nb：副核 Nebenkern；pa：原顶体颗粒物质 Pro-acrosomal granule material.

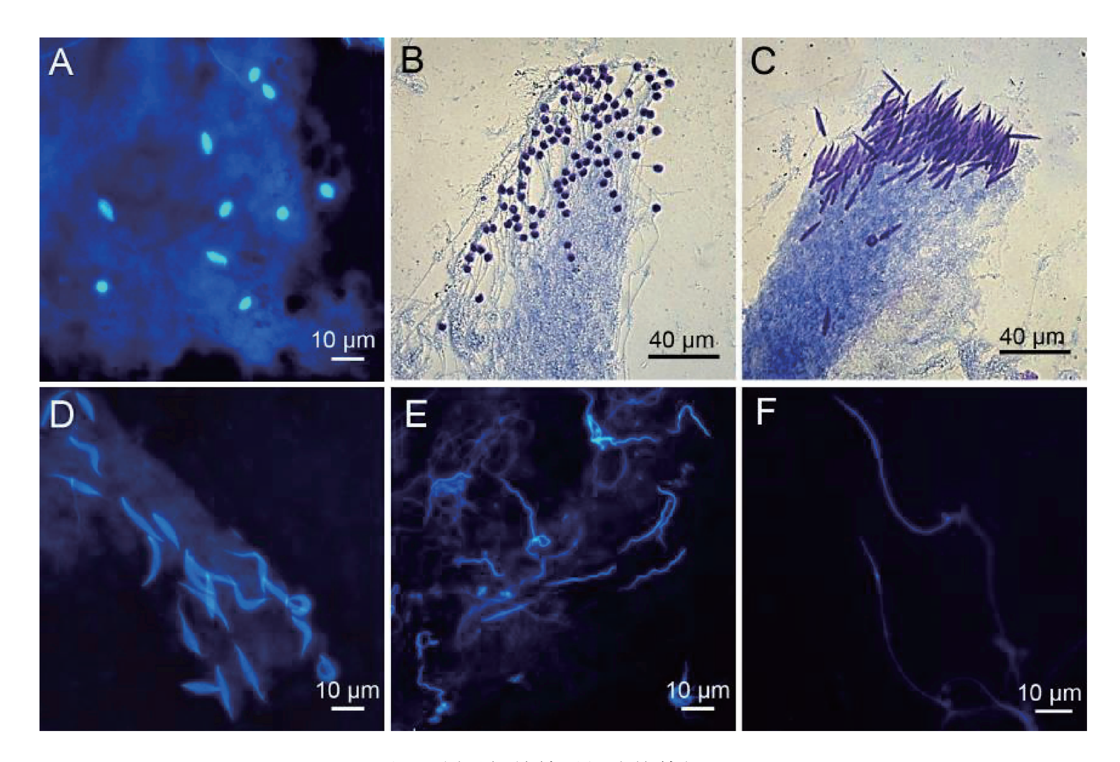


图 5　刘氏蝎蛉精子细胞核伸长过程

Fig. 5　Elongation of spermatid nuclei of *Panorpa liui*

A, B: 精子形成早期阶段的精子细胞核 Nuclei of spermatids in the early stage of spermiogenesis; C – E: 形成中期的精子细胞核变化 Nuclear elongation of spermatids in the middle stage of spermiogenesis; F: 形成末期的精子细胞核 Nuclei of spermatids in the late stage of spermiogenesis.

微管结构(图 6: B);同时,细胞核开始出现 2 条纵向侧沟,侧沟旁具有 2 个侧片结构。两条线粒体衍生物最初大小相等,平行于轴丝结构。随着轴丝和线粒体衍生物的伸长,两条线粒体衍生物中的一个尺寸开始减小(图 6: B, C)。在靠近轴丝的位置,线粒体衍生物出现了面向轴丝的泪滴状晶状体结构(图 6: B – D)。鞭毛的轴丝结构为典型的 9 + 2 型微管排列模式,外围 9 条双微管和中央 2 条中心微管(图 6: D)。

在精子形成末期,顶体结构伸长,内层顶体形成并被外层顶体囊结构所包围(图 7: C, D)。细胞核在形成末期,外形从粗线状拉伸成为细线状(图 5: E, F),细胞核内的染色质变得致密(图 7: D)。细胞核具有 2 条纵向侧沟,使细胞核呈现近蘑菇状横切(图 7: C)。精子鞭毛在精子形成末期继续伸长,其中尺寸较小的线粒体衍生物首先消失,剩余的 1 条线粒体衍生物继续随着鞭毛伸长(图 6: D)。这 2 条线粒体衍生物,从横切面来看,基部大小不等(图 7: B),中部大小相同,端部只剩下 1 条接近椭圆形的线粒体衍生物(图 7: A)。

2.2　刘氏蝎蛉精子超微结构

精囊中的精子成熟后,所有精子聚集在一起,形成一条弹簧状的精子束(图 1: A)。精子束内精子数目不等,往往略低于 128(图 1: D)。

成熟精子主要由头部、颈区和长鞭毛组成。精子的头部较短,主要包括长细胞核和位于细胞核顶端的双层顶体结构。顶体长度较短,呈圆柱形,主要由位于外围的顶体囊和位于中心的内层顶体结构组成。精子的细胞核细长,线状,具有 2 条纵向侧沟延伸整个核区,其横切呈蘑菇状(图 8: A)。在精子形成时期,曾出现在顶体和细胞核两侧的片层状结构在成熟精子中消失不见。

精子的颈区主要由中心粒和发达的中心粒侧体组成(图 8: B, C)。中心粒由 9 个双微管组成,其顶端插入细胞核基部(图 8: B),下部连接轴丝。中心粒侧体为致密、发达的鞘状结构,包裹中心粒和鞭毛基部的线粒体衍生物(图 8: B),位于颈区的外围。随着鞭毛长度的延伸,中心粒侧体逐渐减小,位于两条线粒体衍生物的外围(图 8: C, D),最后中心粒侧体随鞭毛的延伸而消失(图 8: D, E)。

精子鞭毛较长,螺旋状(图 8: I),主要包括一条轴丝、两条大小不等的线粒体衍生物和两条副体。成熟精子鞭毛中的两条线粒体衍生物大小不同,主要表现在直径和长度方面。两条线粒体衍生物在鞭

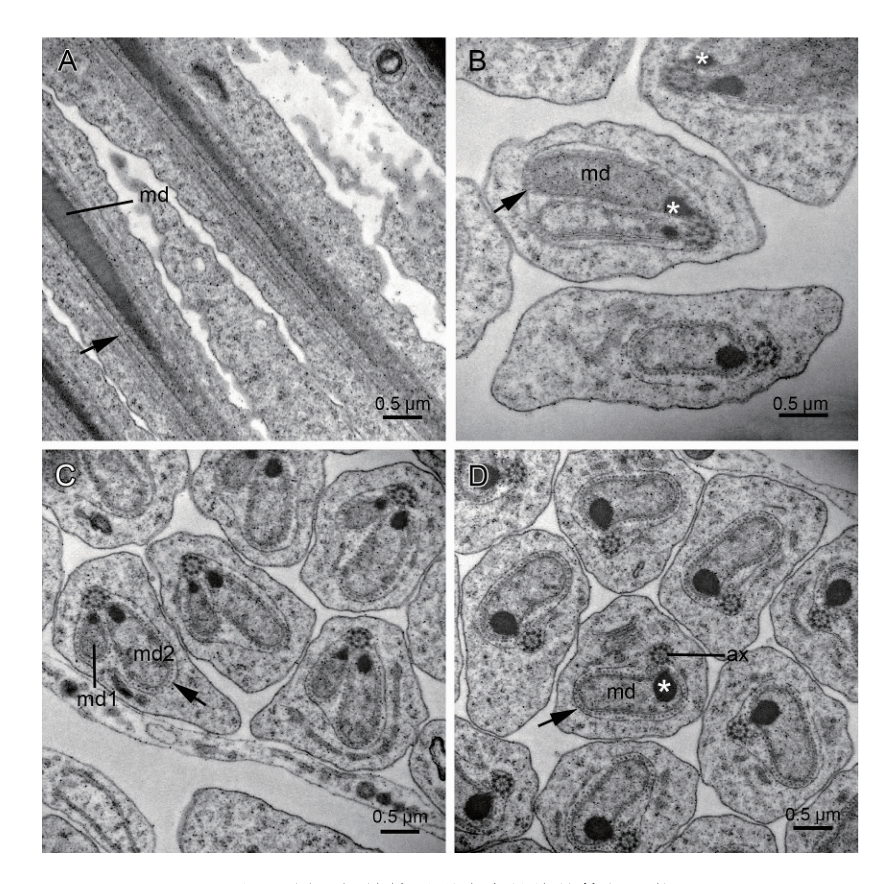


图 6　刘氏蝎蛉精子形成中的线粒体衍生物

Fig. 6　Mitochondrial derivatives of *Panorpa liui* during spermiogenesis

A：精子形成中期线粒体衍生物平行于轴丝（箭头所示）Mitochondrial derivatives parallel to the axoneme (indicated by the arrow) in the middle stage of spermiogenesis；B：精子形成中期线粒体衍生物横切，星号示线粒体衍生物内的晶状体结构，箭头示微管层结构 Cross-section of mitochondrial derivatives of equal size in the middle stage of spermiogenesis, asterisks indicating the crystalline body in the mitochondrial derivatives, and arrow pointing to a layer of microtubules surrounding the mitochondrial derivatives；C：精子形成晚中期两条大小不同的线粒体衍生物，箭头示微管结构 Cross-section of the two mitochondrial derivatives of different sizes in the late middle stage of spermiogenesis, arrow pointing to microtubules；D：精子形成后期较大的线粒体衍生物，星号示线粒体衍生物内的晶状体结构，箭头示微管层结构 Larger mitochondrial derivative remained in the flagellum in the late stage of spermiogenesis, asterisk indicating the crystalline body in the mitochondrial derivative, and arrow pointing to a layer of microtubules surrounding the mitochondrial derivative. ax：轴丝 Axoneme；md：线粒体衍生物 Mitochondrial derivative.

毛基部中心粒侧体包裹的区域，尺寸大小不等（图 8：B）；随着鞭毛长度向后延伸，两条线粒体衍生物直径逐渐相等（图 8：C－E），其横切呈现水滴状（图 8：E），占据了鞭毛长度的大部分区域；继续沿鞭毛向后延伸，其中 1 条线粒体衍生物开始逐渐减小（图 8：F），最后消失，造成余下的鞭毛区域中只有 1 条横切面为椭圆形的线粒体衍生物，该衍生物的尺寸也开始逐渐减小（图 8：G）。在鞭毛末端区域，线粒体衍生物的尺寸较小，其横切面为圆形，直径与轴丝近相等，且在其内部可以明显看到晶状体结构（图 8：H）。

精子轴丝较长，延伸达整个鞭毛区，具有 9＋2 型微管模式（图 8：D－H）。在鞭毛末端区域，轴丝的微管开始变得混乱无序。鞭毛的两条副体结构平行于轴丝，位于轴丝和线粒体衍生物之间（图 8：E）。副体的长度较短，随着鞭毛的延伸而消失，明显短于轴丝和线粒体衍生物（图 8：D－G）。此外，成熟精子质膜外也具有纵向、脊状排列的多糖-蛋白质鞘结构（图 8：D）。

3　讨论

刘氏蝎蛉具有长翅目昆虫精子超微结构的共有特征：较短顶体，长型细胞核，中心粒区域，以及由轴丝、线粒体衍生物、副体和附结构组成的长鞭毛等（Baccetti *et al.*, 1969；Baccetti, 1972；Gassner *et al.*, 1972；Dallai *et al.*, 2003；Russell *et al.*, 2013；Dallai, 2014；Shepardson *et al.*, 2014；Zhang and

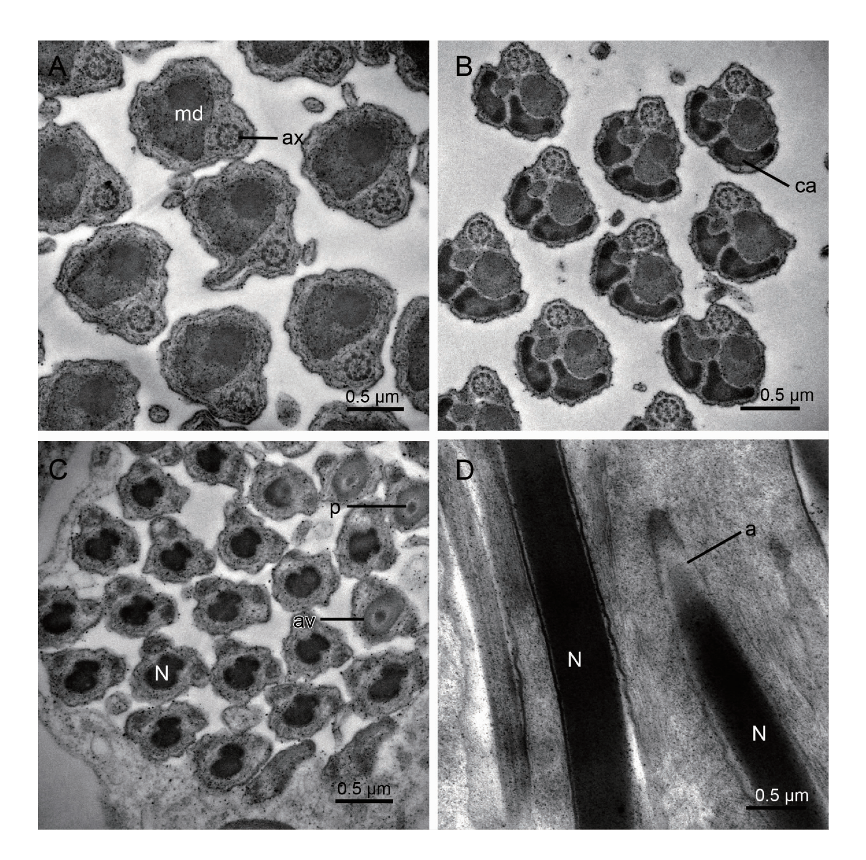


图 7　刘氏蝎蛉精子形成末期的精子结构

Fig. 7　Sperm ultrastructure of *Panorpa liui* in the late stage of spermiogenesis

A：精子鞭毛后部横切 Cross-section of the sperm flagellum in posterior region；B：颈区中心粒侧体横切 Cross-section of the centriolar adjunct located alongside the two mitochondrial derivatives；C：精子头部横切 Cross-section of sperm head；D：精子头部纵切，示顶体和细胞核 Longitudinal section of sperm head, showing the apical acrosome and nucleus. a：顶体 Acrosome；av：顶体囊 Acrosomal vesicle；ax：轴丝 Axoneme；ca：中心粒侧体 Centriolar adjunct；N：细胞核 Nucleus；md：线粒体衍生物 Mitochondrial derivative；p：内层顶体 Perforatorium.

Hua, 2014；Zhang *et al.*, 2016）。刘氏蝎蛉精子超微结构与蝎蛉科已发表种类的精子结构极为相似，均具有较短的双层顶体；有 2 条纵向侧沟的致密细胞核；9 条双微管组成的中心粒；发达、鞘状的中心粒侧体；螺旋状长鞭毛包括 1 条 9 + 2 型轴丝、2 条大小不等的线粒体衍生物、2 条细小附结构；以及精子质膜外的纵向脊状多糖-蛋白质鞘等（表 1）。但刘氏蝎蛉精子也具有独特的特征，即圆柱状细胞核；鞭毛具有 2 条副体结构（表 1），与先前报道的蝎蛉精子鞭毛中副体多为 1 条不同，如蝎蛉属种类（Dallai *et al.*, 2003；Dallai, 2014）以及长瓣叉蝎蛉 *Furcatopanorpa longihypovalva*（Hua & Cai）（Zhang *et al.*, 2016）。刘氏蝎蛉精子超微结构中的 2 条细小的附结构，我们在实验过程中发现该结构真实存在，但因其图片质量不理想而未放入结果部分展示。

在大多数昆虫中，精子颈区的主要组成部分为中心粒侧体。最新研究证实，中心粒侧体来源于中心粒周围物质（Dallai *et al.*, 2016b）。在精子形成过程中，围绕在中心粒周围的中心粒周围物质参与微管的生成后，剩余部分会形成中心粒侧体。中心粒侧体不具备膜结构，在大多数昆虫种类中会沿鞭毛向后伸长，形成两条延长体或副体结构。这些结构通常会伴随轴丝延伸，直至消失，且在不同类群中其长度也不尽相同（Jamieson *et al.*, 1999；Dallai, 2014）。但也有少数类群，如半翅目的异翅亚目（Heteroptera）、大多数双翅目（Diptera）和鳞翅目（Lepidoptera），其精子缺少副体结构（Jamieson *et al.*, 1999；Dallai, 2014；Dallai *et al.*, 2016b）。

在长翅目昆虫中，蝎蛉科除刘氏蝎蛉精子具有 2 条副体外，其余种类多具 1 条副体（Dallai *et al.*, 2003；Dallai, 2014），蚊蝎蛉科（Shepardson *et al.*, 2014）、拟蝎蛉科（Zhang and Hua, 2014）以及雪蝎蛉科（Dallai *et al.*, 2003；Russell *et al.*, 2013）均具有 2 条副体结构。中心粒侧体和副体在成熟精子中的功能目前尚不清楚。曾有研究者（Lindsey and Biesele, 1974）认为中心粒侧体加强了精子头部和

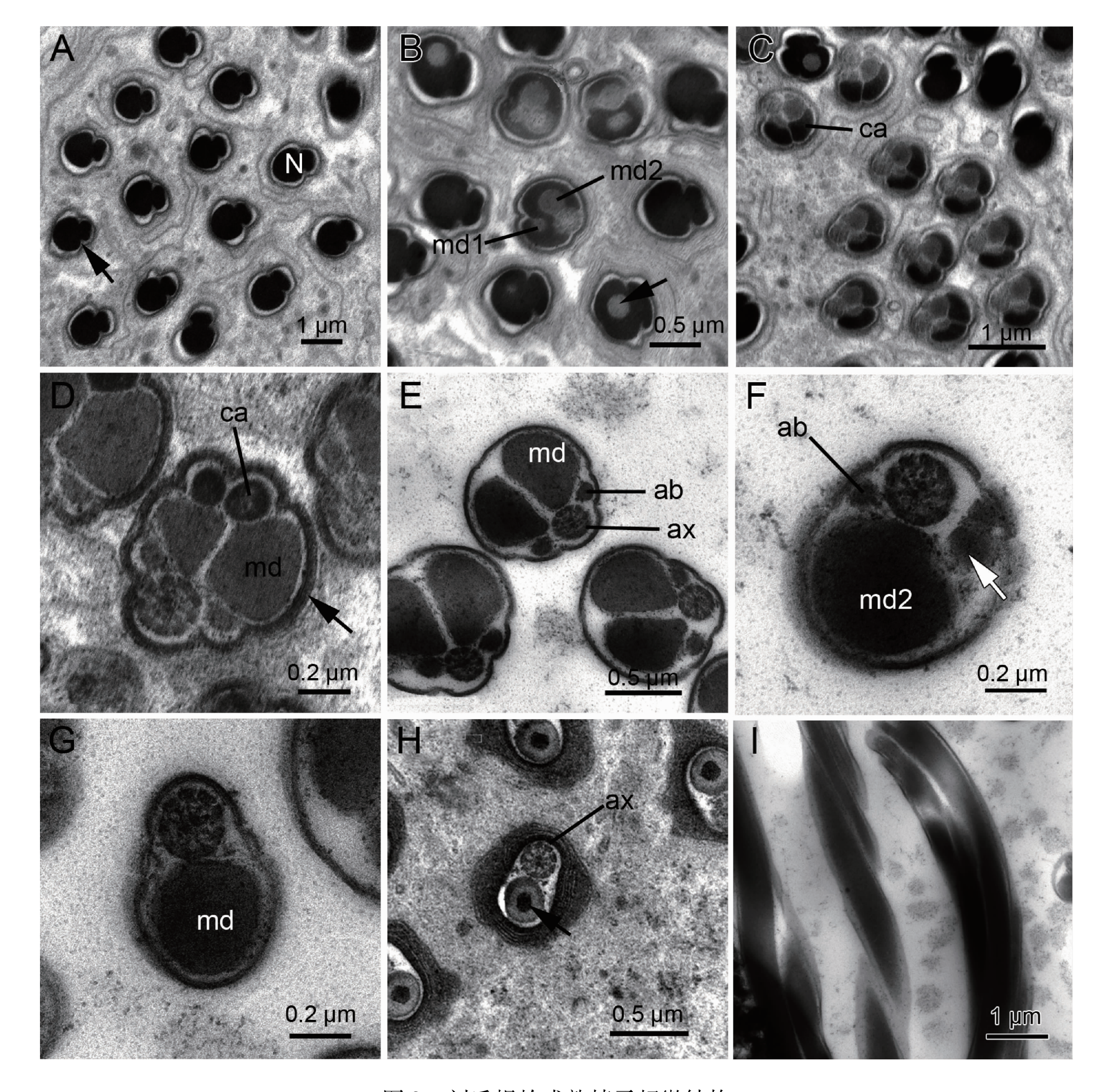


图 8　刘氏蝎蛉成熟精子超微结构

Fig. 8　Ultrastructure of mature sperm of *Panorpa liui*

A：精子细胞核横切，呈蘑菇状，箭头示核沟 Cross-section of the sperm nucleus of a mushroom shape, arrow pointing to the groove；B：精子颈区横切，箭头示中心粒 Cross-section of sperm neck region, arrow pointing to the centriole；C, D：中心粒侧体横切，箭头示多糖-蛋白物质鞘 Cross-section of centriolar adjunct, arrow pointing to the glycocalyx；E：精子鞭毛横切，示 2 个线粒体衍生物、2 个副体和轴丝 Cross-section of sperm flagellum, showing two mitochondrial derivatives, two accessory bodies and the axoneme；F：鞭毛横切，示较小线粒体衍生物（箭头所示）减小消失 Cross-section of the flagellum with the smaller mitochondrial derivative (indicated by the arrow) diminishing；G：鞭毛后端横切，示轴丝和 1 个线粒体衍生物 Cross-section of the posterior flagellum with the axoneme and one mitochondrial derivative；H：鞭毛末端横切，箭头示线粒体衍生物晶状体结构 Cross-section of the anterior terminal of flagellum, arrow pointing to the crystalline body in the mitochondrial derivative；I：螺旋状精子鞭毛纵切 Longitudinal section of the flagellum assuming a helical structure. ab：副体 Accessory body；ax：轴丝 Axoneme；ca：中心粒侧体 Centriolar adjunct；N：细胞核 Nucleus；md：线粒体衍生物 Mitochondrial derivative.

鞭毛区及两条线粒体衍生物的连接作用，但缺少可靠的证据来证实。

大多数昆虫的精子发生都是以精囊为单位进行的，且精原细胞在精囊内连续分裂，产生 2^n 个精母细胞；这些精母细胞再分裂，产生精子细胞；最后精子细胞进一步转化，形成成熟的精子（Phillips, 1970；Jamieson *et al*., 1999；Dallai, 2014）。长翅目昆虫精囊内的精原细胞共经历 7 次连续分裂，产生 128 个精子细胞。这 128 个精子细胞进行同步形变，成熟后形成一条头与头、尾与尾紧密结合的精子束。然而，长翅目昆虫精子束内精子的数目往往会低于 128（Zhang and Hua, 2014），刘氏蝎蛉中也有类似情况。交配过程中，为了增加精子传输速率，雄虫精囊中的精子在成熟后往往会发生精子结合，多

表 1 刘氏蝎蛉、德国蝎蛉和长瓣叉蝎蛉的精子主要特征比较

Table 1 Comparison of major characteristics of sperm cells of *Panorpa liui*, *P. germanica* and *Furcatopanorpa longihypovalva*

种名 Species	顶体 Acrosome	细胞核 Nucleus	中心粒 Centriole	中心粒侧体 Centriolar adjunct	鞭毛 Flagellum	轴丝 Axoneme	线粒体衍生物 Mitochondrial derivative	副体 Accessory body	附结构 Extra-acrosomal structure accessory	多糖-蛋白质鞘 Glycocalyx	来源 Source
刘氏蝎蛉 *P. liui*	短，双层 Short, bilayered	圆柱状，致密，具 2 条核沟 Cylindrical, dense, with two longitudinal grooves	9 条双微管 Nine micro-tubular doublets	发达、鞘状 Well-developed, sheath-shaped	螺旋状，长 Helicoidal, long	1 条，9 +2 型 One, 9 +2 pattern	2 条，大小不等，近椭圆横切 Two, unequal in size, approximately elliptical in cross-section	2 条 Two	2 条，细小 Two, thin	纵向脊状 Longitudinal ridges	本研究 This study
德国蝎蛉 *P. germanica*	短，双层 Short, bilayered	螺旋，致密，具 2 条核沟 Helicoidal, dense, with two longitudinal grooves	9 条双微管 Nine micro-tubular doublets	发达、鞘状 Well-developed, sheath-shaped	螺旋状，长 Helicoidal, long	1 条，9 +2 型 One, 9 +2 pattern	2 条，大小不等，椭圆横切 Two, unequal in size, elliptical in cross-section	1 条 One	2 条，细小 Two, thin	纵向脊状 Longitudinal ridges	Dallai *et al.*, 2003
长瓣叉蝎蛉 *F. longihypovalva*	短，双层 Short, bilayered	螺旋，致密，具 2 条核沟 Helicoidal, dense, with two longitudinal grooves	9 条双微管 Nine micro-tubular doublets	发达、鞘状 Well-developed, sheath-shaped	螺旋状，长 Helicoidal, long	1 条，9 +2 型 One, 9 +2 pattern	2 条，大小不等，锤状横切 Two, unequal in size, hammer-shaped in cross-section	1 条 One	2 条，细小 Two, thin	纵向脊状 Longitudinal ridges	Zhang *et al.*, 2016

以精子束的形式存在，这样会比雄虫传输单个精子的效率高很多（Dallai, 2014）。

Phillips（1970）和 Dallai（2014）认为，精子细胞在转化、形成精子的过程中，涉及到精子多个组成部分的形成，如顶体的形成、细胞核的形变、鞭毛的产生及形变等，过程较为复杂。在精子形成过程中，伴随着各组成结构的产生及形变，可能会出现异常，导致形成一些非正常精子。这类精子因异常而不具备受精能力，可能会被虫体自身的一些体细胞所吞噬，从而造成精子数的减少，导致成熟的精子数目常常会低于成熟前的精子细胞数目。根据上述情况，我们推测，长翅目昆虫精子束内精子数目低于 128 的原因可能也是与细胞的吞噬作用有关。

昆虫生殖细胞的细胞质中，线粒体聚集、融合形成一个明显的球状副核，该结构在精子形成过程中转化形成两条线粒体衍生物（Phillips, 1970; Jamieson *et al.*, 1999; Dallai, 2014）。在长翅目中，线粒体早在精母细胞期就开始发生聚集，精子细胞早期已融合形成了副核结构。而在长翅目不同类群的成熟精子中，两条线粒体衍生物表现不同。本研究中刘氏蝎蛉成熟精子鞭毛中的两条线粒体衍生物大小不等，与蝎蛉科其他种类（Gassner *et al.*, 1972; Dallai *et al.*, 2003）、蚊蝎蛉科（Shepardson *et al.*, 2014）和拟蝎蛉科（Zhang and Hua, 2014）种类的情况类似。其中一条衍生物长度较短，随鞭毛延伸直径减小，逐渐消失，而另一条衍生物较长，直径较大，占据整个后段鞭毛的大部分体积。然而与雪蝎蛉科昆虫（Dallai *et al.*, 2003; Russell *et al.*, 2013）精子的两条线粒体衍生物大小近乎相等的情况不同。此外，不同类群的精子线粒体衍生物横切面形状也存在较大的变异。在蝎蛉科中，较大线粒体衍生物在鞭毛后段横切面多呈现半月状（Jamieson *et al.*, 1999），拟蝎蛉科呈锚状（Zhang and Hua, 2014），蚊蝎蛉科呈圆形（Shepardson *et al.*, 2014），而雪蝎蛉科则呈现为椭圆形（Dallai *et al.*, 2003; Russell *et al.*, 2013）。在蝎蛉科内，不同种间线粒体衍生物也存在一些变异，如刘氏蝎蛉的近椭圆形以及长瓣叉蝎蛉线粒体衍生物横切面呈现为锤状（Zhang *et al.*, 2016），与大多数其他蝎蛉的形状不同。由于在不同类群间表现出较大变异，线粒体衍生物很有可能为长翅目的系统发育分析提供有用的特征。

此外，在长翅目昆虫精子鞭毛中出现的 2 条特殊的附结构位于轴丝和线粒体衍生物之间，外形细小（Dallai *et al.*, 2003; Russell *et al.*, 2013; Shepardson *et al.*, 2014; Zhang and Hua, 2014; Zhang *et al.*, 2016）。在我们的研究中也发现了该结构的存在，2 条细小的附结构同样平行于轴丝，位于轴丝和线粒体衍生物之间，但因其图片效果不太理想未展示在结果中。关于该结构的来源和功能，目前仍是未知数，尽管有类似结构出现于一些直翅类昆虫精子中（Baccetti, 1987），但它们是否为同一类结构目前尚不清楚。总体来讲，长翅目昆虫精子结构研究涉及的类群较少，制约了基于精子超微结构来进行较全面、系统的长翅目系统发育分析，亟需开展更多的研究。

致谢　感谢西北农林科技大学植物保护学院姜碌、苗颖在试虫采集、饲养和样品制备过程中所给予的帮助，以及电镜实验平台郭付振和何晓华在技术上的支持。

参考文献（References）

Baccetti B, 1972. Insect sperm cells. *Adv. Insect Physiol.*, 9: 315 – 397.

Baccetti B, 1987. Spermatozoa and phylogeny in orthopteroid insects. In: Baccetti B ed. Evolutionary Biology of Orthopteroid Insects. Horwood, Chichester, UK. 12 – 112.

Baccetti B, Dallai R, Rosati F, 1969. The spermatozoon of Arthropoda III. The lowest holometabolic insects. *J. Microsc.*, 8: 233 – 248.

Beutel RG, Friedrich F, Hörnschemeyer T, Pohl H, Hünefeld F, Beckmann F, Meier R, Misof B, Whiting MF, Vilhelmsen L, 2011. Morphological and molecular evidence converge upon a robust phylogeny of the megadiverse Holometabola. *Cladistics*, 27(4): 341 – 355.

Birkhead TR, Hosken DJ, Pitnick S, 2009. Sperm Biology: An Evolutionary Perspective. Elsevier, London.

Dallai R, 2009. The contribution of the sperm structure to the reconstruction of the hexapod phylogeny. *Proc. Arthropod Embryol. Soc. Jpn.*, 43: 23 – 38.

Dallai R, 2014. Overview on spermatogenesis and sperm structure of Hexapoda. *Arthropod Struct. Dev.*, 43(4): 257 – 290.

Dallai R, Gottardo M, Beutel RG, 2016a. Structure and evolution of insect sperm: new interpretations in the age of phylogenomics. *Annu. Rev. Entomol.*, 61: 1 – 23.

Dallai R, Lupetti P, Afzelius BA, Frati F, 2003. Sperm structure of Mecoptera and Siphonaptera (Insecta) and the phylogenetic position of *Boreus hyemalis*. *Zoomorphology*, 122(4): 211 – 220.

Dallai R, Paoli F, Mercati D, Lupetti P, 2016b. The centriole adjunct of insects: need to update the definition. *Tissue Cell*, 48(2): 104 – 113.

Friedrich F, Pohl H, Beckmann F, Beutel RG, 2013. The head of *Merope tuber* (Meropeidae) and the phylogeny of Mecoptera

(Hexapoda). *Arthropod Struct. Dev.*, 42: 69 – 88.

Gao C, Ma N, Hua BZ, 2016. *Cerapanorpa*, a new genus of Panorpidae (Insecta: Mecoptera) with descriptions of three new species. *Zootaxa*, 4158: 93 – 104.

Gassner G, Breland OP, Biesile JJ, 1972. The spermatozoa of the scorpionfly *Panorpa nuptialis*: a transmission electron microscope study. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 65(6): 1302 – 1309.

Gottardo M, Dallai R, Mercati D, Hörnschemeyer T, Beutel RG, 2016. The evolution of insect sperm – an unusual character system in a megadiverse group. *J. Zool. Syst. Evol. Res.*, 54(4): 237 – 256.

Hennig W, 1969. Die Stammesgeschichte der Insekten. W. Kramer, Frankfurt am Main.

Hou XY, Hua BZ, 2007. Structure of the female reproductive system in a scorpionfly, *Panorpa liui*. *Chin. Bull. Entomol.*, 44(2): 237 – 240. [侯小燕, 花保祯, 2007. 刘氏蝎蛉雌性生殖系统的构造. 昆虫知识, 44(2): 237 – 240]

Hua BZ, 1997. A new species of the genus *Panorpa* (Mecoptera: Panorpidae) from northeast China. *Entomotaxonomia*, 19(3): 213 – 215. [花保祯, 1997. 蝎蛉属 *Panorpa* 东北一新种(长翅目: 蝎蛉科). 昆虫分类学报, 19(3): 213 – 215]

Jamieson BGM, 1987. The Ultrastructure and Phylogeny of Insect Spermatozoa. Cambridge University Press, Cambridge.

Jamieson BGM, Dallai R, Afzelius BA, 1999. Insects: Their Spermatozoa and Phylogeny. Science Publishers, Plymouth, UK.

Jiang L, Hua BZ, 2013. Morphology and chaetotaxy of the immature stages of the scorpionfly *Panorpa liui* Hua (Mecoptera: Panorpidae) with notes on its biology. *J. Nat. Hist.*, 47(41 – 42): 2691 – 2705.

Lindsey JN, Biesele JJ, 1974. Centriole adjunct development in the grasshopper (*Melanoplus differentialis*). *Cytobios*, 10(37 – 38): 59 – 81.

Ma N, Hua BZ, 2009. Fine structure and formation of the eggshell in scorpionfly *Panorpa liui* Hua (Mecoptera: Panorpidae). *Microsc. Res. Techn.*, 72(7): 495 – 500.

Ma N, Hua BZ, 2010. Structure of ovarioles and oogenesis in *Panorpa liui* Hua (Mecoptera: Panorpidae). *Acta Entomol. Sin.*, 53(11): 1220 – 1226. [马娜, 花保祯, 2010. 刘氏蝎蛉卵巢管结构和卵子发生. 昆虫学报, 53(11): 1220 – 1226]

Ma N, Hua BZ, 2011. Structural evidence why males of *Panorpa liui* offer prey rather than salivary mass as their nuptial gift. *Acta Zool.*, 92(4): 398 – 403.

Ma N, Liu SY, Hua BZ, 2011. Morphological diversity of male salivary glands in Panorpidae (Mecoptera). *Eur. J. Entomol.*, 108(3): 493 – 499.

Misof B, Liu S, Meusemann K, *et al.*, 2014. Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution. *Science*, 346(6210): 763 – 767.

Phillips DM, 1970. Insect sperm: their structure and morphogenesis. *J. Cell Biol.*, 44(2): 243 – 277.

Russell LK, Dallai R, Gottardo M, Beutel RG, 2013. The sperm ultrastructure of *Caurinus dectes* Russell (Mecoptera: Boreidae) and its phylogenetic implications. *Tissue Cell*, 45(6): 397 – 401.

Shen J, Hua BZ, 2013. Fine structures of the ejaculatory sac and sperm pump of the scorpionfly *Panorpa liui* Hua (Mecoptera: Panorpidae). *Micron*, 51: 41 – 47.

Shepardson SP, Humphries BA, Pelkki KL, Stanton DJ, 2014. Spermatozoon ultrastructure of hangingflies, *Bittacus strigosus* and *Bittacus stigmaterus*. *J. Insect Sci.*, 14: 10.

Whiting MF, 2002. Mecoptera is paraphyletic: multiple genes and phylogeny of Mecoptera and Siphonaptera. *Zool. Scr.*, 31(1): 93 – 104.

Wiegmann BM, Trautwein MD, Kim JW, Cassel BK, Bertone MA, Winterton SL, Yeates DK, 2009. Single-copy nuclear genes resolve the phylogeny of the holometabolous insects. *BMC Biol.*, 7: 34.

Zhang BB, Hua BZ, 2014. Sperm ultrastructure of *Panorpodes kuandianensis* (Mecoptera: Panorpodidae). *Microsc. Res. Techn.*, 77(5): 394 – 400.

Zhang BB, Lyu QH, Hua BZ, 2016. Male reproductive system and sperm ultrastructure of *Furcatopanorpa longihypovalva* (Hua and Cai, 2009) (Mecoptera: Panorpidae) and its phylogenetic implication. *Zool. Anz.*, 264: 41 – 46.

(责任编辑: 马丽萍)